



TITLE:

# 病原性・非病原性SHIVの体内増殖 部位と組織病理の比較-HIVの体内 プールの検出

AUTHOR(S):

伊吹, 謙太郎

---

CITATION:

伊吹, 謙太郎. 病原性・非病原性SHIVの体内増殖部位と組織病理の比較-HIVの体内プールの検出. 2005

ISSUE DATE:

2005-03

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/81849>

RIGHT:

p.7-49は学術雑誌掲載論文の抜き刷り、出版社に著作権許諾が得られていないため未掲載。

病原性・非病原性 SHIV の体内増殖部位と組織病理の比較  
—HIV の体内プールの検出

(課題番号 13308049)

平成13年度～平成16年度科学研究費補助金  
(基盤研究(A)(2)) 研究成果報告書



平成17年3月

研究代表者 伊吹 謙太郎

(京都大学・ウイルス研究所・助手)

## はしがき

HAART 療法の登場により、ヒト AIDS ウイルス(HIV-1)感染者体内のウイルス量を検出限界以下にまで減少させることが可能となり、感染者の生存期間は飛躍的に延長した。しかしながら、治療を中断するとウイルスが再び検出されることや長期治療による変異ウイルスの出現などから、HAART 療法では感染者体内からウイルスを完全に排除することはできていない。

はたして、HIV-1 はヒトに感染した後、免疫系や抗 HIV 治療薬からどのようにエスケープし、どこに潜伏し、どういう機序で再活性化して、AIDS を引き起こすのであろうか？

我々はウイルスの体内増殖・潜伏部位の解明が次世代の治療法およびワクチンの開発につながる重要な知見となると考え、アカゲザルと強毒・弱毒サル AIDS ウイルス (SIV) /HIV-1 キメラウイルス(SHIV)を用いた実験系により、個体レベルでの感染過程におけるウイルス増殖部位及び宿主免疫細胞動態の詳細な解析を行なうこととした。

ウイルス接種後半年～1年でアカゲザルに AIDS を発症させる強毒株 (SHIV89.6P) と接種後3年を経ても AIDS を引き起こさない弱毒株 (SHIVNM-3rN) をアカゲザルに静脈内接種すると、SHIV89.6P 感染ザルでは、末梢血 CD4 陽性細胞は枯渇し、血漿ウイルス RNA 量は高値を維持する。その特徴的な病変として、胸腺で髄質細胞を中心にウイルス産生細胞強陽性所見が得られ、4週目には胸腺組織の崩壊が認められた。一方、SHIVNM-3rN 感染ザルでは、末梢血 CD4 陽性細胞数の変動はなく、血漿ウイルス RNA 量も4週以降は検出限界以下となった。また、リンパ系臓器でのプロウイルス DNA 量を測定したところ、SHIV89.6P 感染ザルでは2週目で胸腺、脾臓、腸管リンパ節のいずれも高値 ( $10^4$ – $10^6$ copies/ $\mu$ g) を示したが、SHIVNM-3rN 感染ザルでは2週目ではほとんど検出限界以下であった。以上のことから、感染初期におけるウイルスの胸腺臓器指向性と増殖力の違いがその後の病態に反映していると考えられた。

HIV-1 の主要な感染ルートは性的接触による経粘膜感染である。そこで粘膜感染が成立する同じ親株から派生した2種の SHIV クローン (強毒株 ; SHIVC2/1ks661c(C2/1)、弱毒株 ; SHIVcl64(cl64)) をアカゲザルに経直腸感染させ、感染初期におけるウイルス増殖部位の同定およびその増殖に対する宿主免疫応答の検討を行った。C2/1 が感染後3日までに全身へ拡散し、胸腺を含むリンパ系臓器では盛んに増殖するが、感染局所である腸管では感染はするものの殆ど増殖しないのに対し、cl64 では全身へのウイルス拡散は C2/1 に比べて遅く、ウイルスの主要な増殖部位は感染局所である腸管から、腸間膜リンパ節、胸腺へと段階的に移行する事が示された。一方、体内に存在する CD4 陽性 T細胞については、C2/1 感染ザルでは末梢血で急激に減少するだけでなく胸腺や腸管粘膜でも減少し、特に腸管では CD4 CD8 共陽性 T細胞の減少が先だって顕著に認められた。cl64 感染ザルの腸管では感染後 27 日目でも CD4 CD8 共陽性 T細胞は維持されており、CD4 陽性 T細胞の著しい減少は小腸のみに限られていた。以上から経粘膜感染では、ウイルス感染初期の腸管での免疫細胞群の動態が、その後の病態に大きく影響することが考えられた。

## 研究組織

研究代表者： 伊吹 謙太郎 (京都大学・ウイルス研究所・助手)  
 研究分担者： 速水 正憲 (京都大学・ウイルス研究所・教授)  
 研究分担者： 三浦 智行 (京都大学・ウイルス研究所・助教授)  
 (研究協力者： 嶋田 俊秀 (京都大学・医学部・講師))  
 (研究協力者： 榎瀬 良美 (京都大学・ウイルス研究所・学振特別研究員))  
 (研究協力者： 三宅 在子 (京都大学大学院・人間環境学研究科・D3))  
 (研究協力者： 鈴木 元 (京都大学大学院・医学研究科・D4))

## 交付決定額 (配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 13 年度	5,900	1,770	7,670
平成 14 年度	5,500	1,650	7,150
平成 15 年度	5,500	1,650	7,150
平成 16 年度	5,500	1,650	7,150
総 計	22,400	6,720	29,120

## 研究発表

### (1) 学会誌等

#### [原著論文]

Kozyrev, I L., Ibuki, K., Shimada, T., Kuwata, T., Takemura, T., Hayami, M., Miura, T.: Characterization of less pathogenic infectious molecular clones derived from acute-pathogenic SHIV-89.6P stock virus. Virology. 282:6-13, 2001

Iida, T., Kita, M., Kuwata, T., Miura, T., Ibuki, K., Ui, M., Hayami, M., Imanishi, J.: Apoptosis induced by in vitro infection with simian/human immunodeficiency chimeric virus in macaque and human PBMC., AIDS and Human Retro., 1387-1393, 2001

Kozyrev, I., Miura, T., Takemura, T., Kuwata, T., Ui, M., Ibuki, K., Iida, T., Hayami M.: Co-expression of interleukin-5 influences replication of simian/human immunodeficiency virus in vivo. J.Gen.Virol., 83: 1183-1188, 2002

Kwofie, T., Miura, T., Ibuki, K., Enose, Y., Suzuki, H., Ui, M., Kuwata, T., Hayami, M.: Characterization of simian and human immunodeficiency chimeric viruses re-isolated from vaccinated macaque monkeys after challenge infection. Arch Virol, 147:1091-1104, 2002

Shimada, T., Suzuki, H., Motohara, M., Kuwata, T., Ibuki, K., Ui, M., Iida, T., Fukumoto, M., Miura, T., Hayami, M.: Comparative histopathological studies in the early stage of acute pathogenic and nonpathogenic SHIV-infected lymphoid organs. *Virology.*, 306: 334-346, 2003

Iida, T., Kuwata, T., Ui, M., Suzuki, H., Miura, T., Ibuki, K., Takahashi, H., Yamamoto, T., Imanishi, J., Hayami, M., Kita, M.: Augmentation of antigen-specific cytokine responses in the early phase of vaccination with a live-attenuated simian/human immunodeficiency chimeric virus expressing IFN- $\gamma$ . *Arch. Virol.*, 149:743-757. 2004

Enose, Y., Kita, M., Yamamoto, T., Suzuki, H., Miyake, A., Horiuchi, R., Ibuki, K., Kaneyasu, K., Kuwata, T., Takahashi, E., Sakai, K., Shinohara, K., Miura, T., Hayami, M.: Protective effects of nef-deleted SHIV or that having IFN- $\gamma$  against disease induced with a pathogenic virus early after vaccination. *Arch. Virol.*, 149:1705-1720, 2004

## (2) 口頭発表

三浦智行、ユーリ・コズレフ、伊吹謙太郎、嶋田俊秀、竹村太地郎、桑田岳夫、速水正憲：感染性分子クローンウイルスによる急性毒性ヒト/サル免疫不全ウイルスの病態解析、第131回日本獣医学会、盛岡、10月6-8日、2001.

三宅在子、榎瀬良美、鈴木元、桑田岳夫、伊吹謙太郎、速水正憲：SHIV感染初期の脳における感染性ウイルスの検出、第15回日本エイズ学会、東京、11月29日-12月1日、2001.

榎瀬良美、三宅在子、伊吹謙太郎、速水正憲：アカゲザルマクロファージにおけるSHIV感染とCD40L刺激によるウイルス増殖抑制、第15回日本エイズ学会、東京、11月29日-12月1日、2001.

三浦智行、阪井弘治、篠原克明、高橋栄治、ユーリ・コズレフ、鈴木元、伊吹謙太郎、速水正憲：サル/ヒト免疫不全キメラウイルス強毒・弱毒分子クローンの塩基配列と増殖能との関連、第132回日本獣医学会、東京、3月30日~4月1日、2002.

Miyake, A., Ibuki, K., Enose, Y., Hayami, M.: Virological and immunological analysis of early phase of rectal infection of pathogenic SHIV in macaques, U.S-Japan Cooperative Medical Science Program, Okinawa, March 5-7, 2003.

Kozyrev I. L., Miura, T., Sakai, K., Takahashi, E., Shinohara, K., Suzuki, H., Ibuki, K., Hayami, M.: Comparative analysis of acute pathogenic and less pathogenic SHIV molecular clone, U.S-Japan Cooperative Medical Science Program, Okinawa, March 5-7,

2003.

Ibuki, K., Hayami, M et al: Analysis of gut-associated lymphoid tissues (GALT) at early phase of acute pathogenic SHIV intrarectal infection in macaques. The Awaji International Forum on Infection and immunity, Awajishima, August 25-28, 2003

鈴木元、鈴木麻貴子、三宅在子、伊吹謙太郎、増田恭子、伊川友活、河本宏、仲宗根正、本多三男、速水正憲、三浦智行：強毒サル/ヒト免疫不全キメラウイルス感染初期における胸腺組織及び胸腺内T前駆細胞の解析、日本獣医学会、青森、2003年10月3日～5日

伊吹謙太郎、榎瀬良美、三宅在子、鈴木元、高橋めぐみ、堀内励生、斉藤尚紀、仲宗根正、本多三男、高橋秀実、速水正憲、三浦智行：強毒SHIVの経直腸感染初期における腸管粘膜免疫細胞の動態、日本獣医学会、青森、2003年10月3日～5日

Hayami, M., Miura, T., Ibuki, K., Kozyrev I.: Development of ANTI-HIV-1 attenuated vaccines using gene-modified SHIV having HIV-1env. 11th International Conference "AIDS, Cancer and related Problems" October 6-10, St. Petersburg

Kozyrev I.L., Miura, T., Sakai, K., Takahashi, E., Shinohara, K., Suzuki, H., Ibuki, K., Hayami, M.: Comparative analysis of acute pathogenic and less pathogenic SHIV molecular clones. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate models for AIDS. Seattle, October 22-25, 2003

Suzuki, H., Suzuki, M., Ibuki, K., Masuda, K., Minato, N., Kawamoto, H., Nakasone, T., Honda, M., Hayami, M., Miura, T.: The effects of pathogenic SHIV infection on the thymus and intrathymic T cell progenitor in rhesus monkeys. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate models for AIDS. Seattle, October 22-25, 2003

Ibuki, K., Enose, Y., Miyake, A., Suzuki, H., Takahashi, M., Horiuchi, R., Saito, N., Nakasone, Y., Ami, Y., Izumi, Y., Honda, M., Takahashi, H., Miura, T., Hayami, M.: Analysis of viral expansion and immune reaction at early phase of acute pathogenic SHIV intrarectal infection in macaques. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate models for AIDS. Seattle, October 22-25, 2003

堀内励生、伊吹謙太郎、榎瀬良美、三宅在子、鈴木元、高橋めぐみ、斉藤尚紀、仲宗根正、本多三男、高橋秀実、速水正憲、三浦智行：強毒SHIVのアカゲザル経直腸感染初期における腸管粘膜免疫応答の解析、日本ウイルス学会、京都、2003年10月27日-29日

三宅在子、伊吹謙太郎、榎瀬良美、鈴木元、堀内励生、斉藤尚紀、仲宗根正、本多三男、速水正憲、三浦智行：病原性SHIVの粘膜感染初期におけるウイルス動態の解析、日本ウイルス学

会、京都、2003年10月27日-29日

三浦智行、コズレフユーリ、阪井弘治、篠原克明、高橋栄治、鈴木元、伊吹謙太郎、速水正憲：  
サル/ヒト免疫不全キメラウイルス感染性クローンにおける塩基置換と病原性との関連、日本  
ウイルス学会、京都、2003年10月27日-29日

Iouri Kozyrev、阪井弘治、高橋栄治、篠原克明、鈴木元、伊吹謙太郎、速水正憲：Genetic analysisi  
of acute pathogenic and less pathogenic SHIV molecular clones to determine the  
responsive for in vivo pathogenicity、日本エイズ学会、神戸、2003年11月27日-29日

Miyake,A., Ibuki,K., Enose,Y., Suzuki,H., Horiuchi,R., Saito,N., Nakasone,T., Honda,M.,  
Miura,T., Hayami,M.: Early virological events in various tissues of adult and newborn  
macaques after intrarectal infection with pathogenic SHIV. XV INTERNAYIONAL AIDS  
CONFERENCE , July 11 to 16 , 2004, Thai

Ibuki,K., Enose,Y., Miyake,A., Takahasi,M., Suzuki,H., Horiuti,R., Saitou,N.,  
Nakasone,T., Honda,M., Miura,T., Hayami,M.: Analysis of gut-associated lymphoid  
tissues (GALT) at early phase of acute pathogenic SHIV intrarectal infection in macaques.  
XV INTERNAYIONAL AIDS CONFERENCE , July 11 to 16 , 2004, Thai

Ibuki,K., Miyake,A., Horiuchi,R., Saitou,N., Suzuki,H., Motohara,M., Inaba,K., Miura,T.,  
Hayami,M.: The effects of low-pathogenic SHIV intrarectal infection on immune cell  
population of the intestinal tract in comparison to acute-pathogenic SHIV infection. The  
Awaji International Forum on Infection and Immunity, August 30 to September 2,2004,  
Awaji

伊吹謙太郎、三宅在子、堀内励生、齋藤尚紀、鈴木元、元原麻貴子、稲葉一寿、速水正憲、三  
浦智行：サル/ヒト免疫不全キメラウイルス（SHIV）弱毒分子クローンのサル経粘膜感染に  
おける免疫応答の解析、第138回日本獣医学会、2004年9月10-12日、札幌

伊吹謙太郎：病原性SHIV感染初期の腸管免疫の解析、第20回日本獣医畜産大学学術交流会、  
2004年9月19日、京都

元原麻貴子、伊吹謙太郎、三宅在子、鈴木元、稲葉一寿、増田恭子、河本宏、三浦智行、速水  
正憲：弱毒SHIVの感染初期における胸腺組織及び胸腺内T前駆細胞の解析、第52回日本ウイル  
ス学会、2004年11月21-23日、横浜

三宅在子、伊吹謙太郎、深澤嘉伯、鈴木元、堀内励生、齋藤尚紀、元原麻貴子、渡邊俊樹、三  
浦智行、速水正憲：弱毒SHIVの粘膜感染初期におけるウイルス動態の解析、第52回日本ウイル  
ス学会、2004年11月21-23日、横浜

Ibuki, K., Miyake, A., Horiuchi, R., Saitou, N., Suzuki, H., Motohara, M., Inaba, K., Miura, T., Hayami, M.: The effect of low-pathogenic SHIV intrarectal infection on immune cell population of the intestinal tract in comparison to autopathogenic SHIV infection. 40th Anniversary of US-Japan Cooperative Medical Science Program, 17th Joint Meeting of AIDS Panels, Kyoto, December 8-9, 2004.

伊吹謙太郎、三宅在子、堀内励生、齊藤尚紀、鈴木元、元原麻貴子、稲葉一寿、速水正憲、三浦智行：弱毒SHIV分子クローンのサル経直腸感染初期における腸管粘膜免疫の解析、第18回日本エイズ学会、静岡、2004年12月9-11日

伊吹謙太郎：SIV/HIV-1キメラウイルス（SHIV）粘膜感染ザルを用いた病態の検討、平成16年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会「サル類疾患の生態学」、2005年1月22日、愛知

### (3) 出版物

なし

### 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

なし